

DAYA ANTIOKSIDAN DAN KADAR FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI ETANOL-AIR DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.).¹⁾

Sri Arini, Dani Nurmawan, Fin Alfiani²⁾, dan Triana Hertiani³⁾

INTISARI

Penelitian tentang daya antioksidan dan kadar flavonoid hasil ekstraksi etanol-air daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.), telah dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika Pusat UGM. Senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa secara kualitatif telah diketahui secara aktif sebagai antioksidan. Namun, aktivitasnya secara kuantitatif belum diketahui secara pasti.

Hasil penelitian tentang aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daging buah mahkota dewa mempunyai kadar flavonoid yang paling tinggi dan dipeoleh bahwa makin tinggi kadar flavonoid ekstrak daging buah mahkota dewa, maka makin besar pula aktivitas antioksidannya. Namun, perlu kajian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daging buah mahkota dewa dengan metode uji yang lain. Juga perlu pengujian toksisitas dari ekstrak etanol daging buah mahkota dewa.

¹⁾Finalis Lomba Karya Inovatif Produktif Bidang Kesehatan dalam PIMNAS Tahun 2003

²⁾Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³⁾Dosen Pembimbing Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

PENDAHULUAN

Dewasa ini mahkota dewa sebagai tanaman asli Indonesia semakin banyak digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, lever, darah tinggi dan sebagainya sering dikaitkan dengan pengaruh buruk radikal bebas terhadap tubuh. Tubuh kita sebenarnya mempunyai pertahanan endogen sebagai antioksidan, namun kebutuhannya meningkat seiring meningkatnya paparan agen polusi

Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl. dikenal dengan nama daerah simalakama (Melayu), makutadewa (Jawa) dan mahkota dewa (Anonim, 2001). Menurut Djumidi *et al.* (1999), daun dan buah mahkota dewa mengandung alkaloid dan saponin. Daunnya mengandung polifenol, sedangkan buahnya mengandung flavonoid. Pada penelitian yang dilakukan Sekar (2002) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa secara kualitatif aktif sebagai antioksidan, namun aktivitasnya secara kuantitatif belum diketahui.

Flavonoid adalah salah satu golongan senyawa fenol alam terbesar dan merupakan kandungan khas tumbuhan hijau, kecuali algae (Markham, 1988). Juga disebutkan bahwa penyebaran flavonoid yang terbesar terdapat pada angiospermae.

Ekstraksi flavonoid dari tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut polar. Pelarut yang kurang polar digunakan untuk mengekstraksi aglikon flavonoid. Pelarut yang lebih polar digunakan untuk mengekstrak glikosida flavonoid atau antosianin. Flavonoid merupakan

senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersulih. Oleh karena itu, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetilformamid (DMF) dan air (Markham, 1988)

Umumnya pelarut alkoholik merupakan pilihan untuk mengekstraksi semua golongan flavonoid. Bahan segar dapat diekstraksi dengan alkohol absolut. Namun untuk bahan kering dan kayu diekstraksi menggunakan alkohol berair. Hal ini disesuaikan dengan glikosida flavonoidnya (Harborne, 1987).

Flavonoid dapat dideteksi dengan mengamati terjadinya perubahan warna sebelum dan sesudah diberi uap amonia. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang bersifat asam sehingga menimbulkan warna yang khas dengan amonia (Markham, 1988).

Sebagian besar flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya. Ketika senyawa-senyawa ini bereaksi dengan radikal bebas, dapat membentuk radikal baru yang stabil oleh efek resonansi inti aromatik. Dengan demikian fase propagasi meliputi reaksi radikal berantai dapat dihambat (Cuvelier *et al.*, 1991).

METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan adalah buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) yang

telah berwarna merah dan diambil di daerah Wates, Kulon Progo, Yogyakarta. Sebagai pelarut, digunakan: etanol (30%, 50%, 70%, dan 95%), plate selulosa, BAW (3:1:1) v/v, dapar fosfat 0,3 M pH 6,6, Trikloro asetat (TCA) 10%, Vitamin C, Kalium ferisianida 1% Feriklorida 2%, aquades, $K_3Fe(CN)_6$ 1,25%, $FeCl_3$ 0,05%, Kuersetin, Teh Mahkota Sari, serta produk instan Phalerian

B. Alat

Alat yang digunakan antara lain: neraca, cawan porselen, penangas air, flakon, pipet tetes, pipet volume, pipet ukur, propipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beker glass, labu ukur, labu takar, chamber oven, dan kuvet. Alat analisa yang digunakan Densitometri CS-930 Shimadzu, dan Spektroskopi UV Hitachi 150-120 UV-vis.

C. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika Pusat UGM.

D. Cara Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman mahkota dewa dilakukan berdasar buku "Flora of Java" (Becker dan Van Den Brink, 1968).

Pengambilan sampel

Buah dibersihkan dengan air mengalir, dipisahkan dari bijinya dan dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam. Sampel kemudian diblender untuk mengecilkan ukuran partikel.

Ekstraksi

Sebanyak 200 g serbuk mahkota dewa, kemudian masing-masing ditambah 1 liter etanol 30%, 50%, 70%, dan 95% dan didiamkan selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dengan kertas saring. Maserat yang didapatkan kemudian diuapkan dalam penangas air hingga kental. Kemudian ditentukan bobot ekstrak dan dihitung rendemennya.

Pengujian pendahuluan flavonoid

Ekstrak etanol masing-masing ditotolkan pada kromatografi lapis tipis dengan fase diam dan fase gerak yang sesuai, sehingga diperoleh pemisahan flavonoid yang optimal. Bercak kromatogram diamati di bawah UV sebelum dan sesudah diberi uap amonia. Adanya bercak warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

Pengujian pendahuluan Antioksidan

Kromatogram pada pengujian pendahuluan flavonoid disemprot dengan pereaksi semprot untuk

uji antioksidan yaitu campuran yang baru dibuat dari larutan kalium ferisianida 1% dan feriklorida 2% dengan perbandingan 1 : 1. Adanya bercak biru menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Barton *et al*, 1952 *cit* Stahl, 1969).

Pengujian Kadar Flavonoid

1. Pembuatan kurva baku kadar flavonoid

Pertama kali dibuat larutan kuersetin dengan konsentrasi 0,01%; 0,02%; 0,03%; dan 0,04%, kemudian masing-masing larutan tersebut ditotolkan sebanyak 2 μ L pada lempeng selulosa. Kemudian dikembangkan pada bejana dengan fase gerak BAW (3:1:1). Bercak kuersetin yang didapat kemudian diukur dengan TLC-Scanner.

2. Pengukuran kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan produk

Dibuat larutan ekstrak etanol mahkota dewa 30%, 50% 70% dan 95% serta produk dengan 0,5%. Kemudian masing-masing larutan diperlakukan sama dengan tahapan pembuatan kurva baku standar flavonoid.

Uji Daya Antioksidan

Penetapan daya mereduksi menggunakan metode Oyaizu yang dimodifikasi.

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kurva Baku

Sebanyak masing-masing 1 ml larutan kuersetin konsentrasi 0,001% dan vitamin C 0,00036% ditambah dengan 2,5 ml dapar fosfat 0,2 M pH 6,6. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan $K_3Fe(CN)_6$ 1,25%. Kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Setelah itu masing masing ditambahkan Trikloro asetat (TCA) 10% sebanyak 2,5 ml dan tambahkan aquades sampai 10 ml. Kemudian dari larutan yang didapatkan kemudian diambil 1 ml. Masing-masing ditambah aquades 3 ml dan $FeCl_3$ 0,05% 1ml. Kemudian masing masing dicari panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum.

2. Penentuan Operating time

Prosedur sama seperti pada penentuan panjang gelombang maksimum, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada λ maksimum serta dicari waktu yang menunjukkan absorbansi maksimum.

3. Pembuatan kurva baku kuersetin

Pertama kali dibuat 1 ml larutan kuersetin 0,0004%; 0,0006%; 0,0008%; 0,001%; 0,0012%. Kemudian masing-masing ditambah 2,5 ml dapar fosfat 0,2 M pH 6,6. Setelah itu ditambahkan 2 ml larutan $K_3Fe(CN)_6$ 1,25%. Kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50 °C. Setelah itu masing

masing ditambahkan Trikloro asetat (TCA) 10% sebanyak 2,5 ml dan tambahkan aquades sampai 10 ml. Dari larutan yang didapatkan kemudian diambil 1 ml. Masing-masing ditambahaquades 3 ml dan FeCl_3 0,05% 1ml. Kemudian masing masing absorbansi diukur pada λ maksimum.

4. Pembuatan kurva baku vitamin C

Disiapkan 1 ml larutan vitamin C dengan konsentrasi $3,6 \times 10^{-4}\%$; $4,8 \times 10^{-4}\%$; $6,0 \times 10^{-4}\%$; $7,2 \times 10^{-4}\%$; dan $8,4 \times 10^{-4}\%$. Selanjutnya, prosedur sama seperti pembuatan kurva baku kuersetin

5. Pengukuran kemampuan mereduksi ekstrak etanol dan produk

Dibuat 1 ml larutan ekstrak etanol konsentrasi 0,25%-0,5%, sedangkan produk dengan konsentrasi 5%. Selanjutnya, prosedur sama seperti pembuatan kurva baku kuersetin.

E. Cara Analisa Data

Kurva baku flavonoid diperoleh dengan cara membuat regresi linier antara luas puncak kuersetin hasil kromatografi lapis tipis densitometri dengan konsentrasi kuersetin. Sedangkan kadar flavonoid ekstrak etanol mahkota dewa dan produk di pasaran diukur dengan cara memplotkan luas puncak hasil KLT densitometri pada kurva baku.

Kemampuan mereduksi kuersetin dibuat kurva baku dengan cara membuat regresi linier antara absorbansi dan konsentrasi kuersetin. Kemampuan mereduksi ekstrak etanol mahkota dewa dan produk dipasaran diukur dengan cara memplotkan absorbansi pada kurva baku kuersetin, kemudian dilihat hubungan antara kemampuan mereduksi dengan akdar flavnoid. Daya antioksidan antara ekstrak etanol mahkota dewa dan produk di pasaran dianalisis menggunakan uji Tuckey dengan taraf kepercayaan 95%. Ekstrak etanol yang mempunyai kadar flavonoid dan daya antioksidan tertinggi dihitung kesetaraannya dengan kurva baku vitamin C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Tabel 1. Rendemen hasil ekstraksi serbuk mahkota dewa

Ekstraksi	Rendemen (%)
Etanol 30%	14,95
Etanol 50%	16,16
Etanol 70%	13,67
Etanol 95%	6,69

Berdasarkan hasil percobaan, ternyata rendemen paling besar diperoleh pada ekstraksi dengan etanol 50% dan paling sedikit dengan etanol 95%. Ekstrak

yang ideal memiliki bobot rendemen hasil kecil tapi dengan kadar senyawa aktif besar. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian senyawa aktif untuk menentukan perbandingan etanol-air yang paling efektif untuk mengekstraksi daging buah mahkota dewa.

Optimasi Fase Gerak KLT

Hasil pemisahan asam asetat 15% masih menunjukkan adanya tailing, sedangkan dengan air, bercak tidak sempurna. Pemisahan paling baik ditunjukkan pada elusi dengan BAW 3:1:1.

Bercak ekstrak etanol 70% dielusi dengan asam asetat mempunyai R_f 0,235 tetapi pemisahan bercak belum sempurna. Pada elusi dengan air (ii) tidak terjadi pemisahan bercak yang sempurna dengan R_f 0,7. Pada elusi dengan BAW 3:1:1 terjadi pemisahan bercak dengan $R_f = 0,38$. Fase gerak yang optimal untuk mengelusi sampel adalah BAW 3:1:1.

Uji Pendahuluan flavonoid

Tabel 2. Warna bercak kromatogram sebelum dan sesudah diberi uap amonia dibawah UV 366 nm

Sampel	UV 366 sebelum diberi uap amonia	UV 366 setelah diberi uap amonia
Ekstrak etanol	Kuning	Kuning
Phalerian	Kuning	Kuning
Mahkoeta Sari	Coklat	Kuning
Kuersetin	Kuning	Kuning

Bercak flavonoid akan berwarna kuning jika diberi uap dengan amonia. Flavonoid juga dideteksi dengan UV 366 nm.

Bercak kromatogram yang diberi uap amonia berwarna kuning sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan sampel mengandung flavonoid (Markham, 1988).

Uji Pendahuluan Antioksidan

Pada pengujian ini menunjukkan bercak berwarna biru setelah disemprot dengan kalium ferisianida 1% dan feriklorida 2%, berarti baik kuersetin sebagai pembanding maupun sampel memiliki aktivitas antioksidan.

Kadar Flavonoid

Tabel 3. Kadar relatif flavonoid sampel

Sampel	Kadar relatif flavonoid ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Ekstrak etanol 30%	34,082
Ekstrak etanol 50%	33,169
Ekstrak etanol 70%	45,734
Ekstrak etanol 95%	43,913
Mahkoeta Sari	4,455
Phalerian	0,404

Dari hasil perhitungan diketahui bahwa ekstraksi dengan etanol menghasilkan kadar flavonoid jauh lebih besar daripada produk teh dan produk instan. Ekstrak etanol 70% memiliki kadar flavonoid paling besar sehingga kemungkinan ekstraksi dengan etanol 70% paling efektif untuk mendapatkan kadar flavonoid optimum.

Pengujian data Antioksidan

Tabel 4. Kandungan rata-rata senyawa antioksidan dalam sampel (dianggap sebagai kuersetin)

Sampel	Kandungan rata-rata senyawa antioksidan dalam sampel (μg) per mg sampel
Ekstrak etanol 30%	129,06
Ekstrak etanol 50%	120,4
Ekstrak etanol 70%	175,96
Ekstrak etanol 95%	133,12
Mahkota Sari	2,066
Phalerian	3,988

Dari tabel diperoleh bahwa ekstrak etanol memiliki daya antioksidan lebih tinggi daripada produk di pasaran (Mahkota Sari dan Phalerian). Ekstrak etanol 70% memiliki daya antioksidan paling tinggi di antara ekstrak etanol yang diuji dalam penelitian ini. Semakin tinggi kadar flavonoid maka potensi antioksidannya juga semakin tinggi. Ekstrak etanol 70% yang memiliki kadar flavonoid tertinggi juga memiliki potensi antioksidan tertinggi. Berdasarkan hal tersebut kemungkinan flavonoid merupakan kandungan kimia yang paling bertanggung jawab pada efek antioksidan daging buah mahkota dewa.

Hasil uji Tuckey dengan taraf kepercayaan 95%, menunjukkan bahwa daya antioksidan antara ekstrak etanol 70% yang memiliki daya antioksidan tertinggi dengan ekstrak etanol 30%, ekstrak etanol 50% dan produk teh serta instan memiliki perbedaan yang signifikan. Oleh karena itu metode ekstraksi dengan etanol 70% sangat efektif untuk mendapatkan antioksidan dari daging buah mahkota dewa.

Untuk mengetahui kadar flavonoid ekstrak etanol 70% dari daging buah mahkota dewa yang efektif sebagai antioksidan, aktivitas antioksidan flavonoid dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C.

Berdasarkan perhitungan, didapatkan kesetaraan daya mereduksi ekstrak etanol 70% dengan daya mereduksi vitamin C, yaitu 0,05 mg ekstrak etanol 70% setara dengan 10,04 μg vitamin C.

Menurut Farmakope Indonesia edisi II, vitamin C dosis pemeliharaan adalah 60 mg per hari. Dosis ini mempunyai daya antioksidan setara dengan daya antioksidan ekstrak etanol 70% daging buah mahkota dewa sebesar 300 mg. ekstrak etanol daging buah mahkota dewa sebesar 300 mg mengandung flavonoid sejumlah 13,7 mg

Untuk membuat produk mahkota dewa sebagai antioksidan dapat dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan etanol 70% dan produk harus mengandung flavonoid sekitar 13,72 mg yang setara dengan 60 mg vitamin C.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Daya antioksidan ekstrak etanol-air daging buah mahkota dewa lebih besar daripada daya antioksidan produk mahkota dewa di pasaran yang berupa teh dan produk instan. Ekstrak yang memiliki daya antioksidan paling tinggi adalah ekstrak etanol 70%.
2. Ekstrak etanol 70% daging buah mahkota dewa mempunyai kadar flavonoid paling tinggi.
3. Semakin tinggi kadar flavonoid ekstrak daging buah mahkota dewa, aktifitas antioksidannya semakin besar.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daging buah mahkota dewa dengan metode uji yang lain
2. Ekstrak etanol daging buah mahkota dewa perlu diuji toksisitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Saikhan, M.S., Howard, L.R., Miller, J.J.C., 1995, *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Different Genotypes of Potato (Solanum tuberosum)*, J.Ford Sa, 60 (2), 341
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI, Jakarta, 35-36
- Anonim, 2001, <http://www.dokterdantabib.com>
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi V, Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Backer, C.A., and Van Den Brink, B.R.C., 1968, *Flora of Java*, Vol I, NVP, Noordhoff, Groninger, The Netherlands
- Backer, C.A., and Van Den Brink, B.R.C., 1968, *Flora of Java*, Vol II, NVP, Noordhoff, Groninger, The Netherlands
- Barton, G.M., Evans, R.S., Gardner, Jaf, 1952 *cit* Stahl (Ed), 1969, *Thin Layer Chromatography*, 876, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Cuvellier, M.E., Richard, H., and Besset, C., 1991, *Comparison of The Antioxidative of Some Acids Phenols: Structure-Activity Relationship*, Bioschi. Biotech., 56 (2), 324-325
- Djumidi, Sutjipto, Gotama, I.B., Sugiarso, Nurhadi, M., Widyastuti, Y., Wahyono, S., dan Prapti,

- I.Y., 1999, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi V, 147-148, Departemen Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta
- Donatus, I.A., 1994, *Antaraksi Kurkumin dengan Parasetamol Kajian terhadap Aspek Farmakologi Perubahan Hayati*, Disertasi, Pasca Sarjana UGM, Jogjakarta, 127
- Geissman, T.A., 1962, *The Chemistry of Flavanoid Compounds*, The Mac Millan Company, New York, 3
- Harborne, J.B., 1987, *Comparative Biochemistry of Flavonoids*, Academic Press, London, 41-43
- Harmanto, N., 2001, *Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Hertiani, T., 2000, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Antioksidan dari Daun Palntago mayor L.*, Tesis, Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Kikuzaki, H., and Nakatani, N., 1993, *Antioxidant Effect of Some Ginger Constituents*, J. Food Sci., 58 (6), 1407
- Leswara, N.D., Katrin, 1998, *Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri*, Warta Tumbuhan Obat Indonesia
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Mulja, M., Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya, 231-235
- Niki, E., Noguchi, N., Iwatsuki, M., and Kato, Y., 1995, *Dynamics of Antioxidation by Phenolics Antioxidants*, Phsycochemicals Issues, in Packer L., traban, M.G., Xin, W. (Eds), Proceedings of International Symposium on Natural Antioxidants, Molecular Mechanism and Health Effeca, AOCS Press, Illionis, 1-2
- Sastrohamidjoyo, 1991, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta
- Sekar, A.A., 2002, *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Antioksidan dalam Ekstrak Metanol Buah Makutadewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.)*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Simic, M.G., and Jovanovic, S.V., 1994, *Inactivation of Oxygen Radiclas by Dietary Phenolic Compounds in Anticarcinogenesis*, In Ho, C.S., Osawa, T., Huang, M., and Rosen, R.T.(Eds), Food Phytochemicals for Cancer Prevention II, Teas, Spices, and Herbs, American Chemical Society, Washington DC., 29
- Sudjadi, 1988, *Analisis Obat dan Makanan*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Sumarno, 2000, *Kromatografi Teori Dasar dan Perunjuk Praktikum*, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, 42-61
- Torrel, J., Cillard, J, Cillard, D., 1985, *Antioxidants activity Flavonoid and Reactivity with Peroxi Radicals*, Phytochemistry, 25 (2), 383
- Wijaya, A., 1996, *Radikal Bebas dan Status Antioksidan*, Forum Diagnosticum, 1, 1-5